

10/5^{525 875}25875

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2004 年 3 月 4 日 (04.03.2004)

PCT

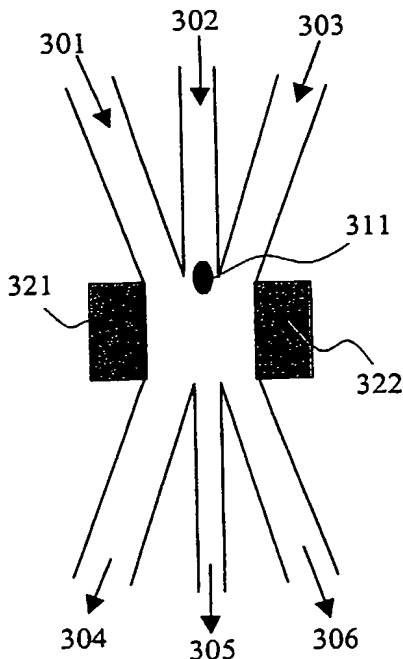
(10) 国際公開番号
WO 2004/019033 A1

- (51) 国際特許分類⁷: G01N 33/48, 15/14 (ICHIKI, Takanori) [JP/JP]; 〒350-2203 埼玉県 鶴ヶ島市 上広谷 3 4 3-5-3 0 2 Saitama (JP). 安田 賢二 (YASUDA, Kenji) [JP/JP]; 〒135-0052 東京都 江東区 潮見 2-8-1 4-1 0 1 4 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2003/010760
- (22) 国際出願日: 2003 年 8 月 26 日 (26.08.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: 特願2002-245902 2002 年 8 月 26 日 (26.08.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人科学技術振興機構 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY) [JP/JP]; 〒332-0012 埼玉県 川口市 本町 4 丁目 1 番 8 号 Saitama (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 一木 隆範
- (74) 代理人: 西澤 利夫 (NISHIZAWA, Toshio); 〒107-0062 東京都 港区 南青山 6 丁目 11 番 1 号 スリーエフ南青山ビルディング 7F Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): CN, US.
- (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: CELL ANALYZING AND SEGREGATING DEVICE

(54) 発明の名称: 細胞分析分離装置

BEST AVAILABLE COPY



(57) Abstract: A cell analyzing and segregating device, comprising a flow passage for leading, therein, fluid containing specimen led, in the form of laminar flow, into a specimen sorting part, a pair of flow passages symmetrically disposed on both sides thereof for leading, therein, only the fluid, a means for leading an external force to the specimen sorting part only when an observed specimen is discharged at the specimen sorting part, a specimen collecting flow passage disposed on the downstream side of the flow passage for leading the specimen so that the fluid containing the specimen is allowed to flow to collect only the specimen selected in the form of laminar flow from the specimen fractional part, and a pair of fluid flow passages symmetrically disposed on both sides thereof to discharge unnecessary specimen, whereby the collected specimen can be prevented from being damaged by sorting the specimen based on the micro structure of the specimen and a fluorescence distribution in the specimen.

(57) 要約: 試料分画部に層流で導入される試料を含む流体が導入される流路と、その両脇に、対称な形で配置された1対の流体のみが導入される流路と、試料分画部において観察試料を排出するときのみ試料分画部に外力を導入する手段と、試料分画部から選択された試料のみが層流で回収される試料を含む流体が流れ出るよう前記試料を導入する流路の下流に配置された試料回収流路と、その両脇に、対称な形で配置された必要ない試料が排出される1対の流体の流路を有する細胞分析分離装置であり、試料の微細構造と試料中の蛍光分布に基づいて試料を分画し、回収する試料に損傷を与えないものとする。

WO 2004/019033 A1

明 細 書

細胞分析分離装置

技術分野

この出願の発明は、細胞試料に損傷を与えることなしに簡便に細胞の分析分離を行うことを可能とする新しい細胞分析分離装置に関するものである。

背景技術

培養液中の特定の細胞を分離し回収することは生物学・医学的な分析においては重要な技術である。細胞の比重の違いで細胞を分離する場合には速度沈降法によって分離することができる。しかし、未感作の細胞と感作した細胞とを見分けるような、細胞の違いがほとんど無い場合には、蛍光抗体で染色した情報あるいは目視の情報を基に細胞を1つ1つ分離する必要がある。この技術についてはたとえばセルソーターがある。セルソーターは蛍光染色処理後の細胞を電荷を持たせた液滴中に1細胞単位で単離して滴下し、この液滴中の細胞の蛍光の有無、光散乱量の大小を基に、液滴が落下する過程で、落下方向に対して法平面方向に高電界を任意の方向に印加することで、液滴の落下方向を制御して、下部に置かれた複数の容器に分画して回収する技術である。この技術について詳しくは、Kamarck, M. E. が *Methods Enzymol.* 第151巻第150頁から165頁(1987年)に報告している。

しかし、この技術は高価であること、装置が大型であること、数千ボルトという高電界が必要であること、試料が多量に必要であること、液滴を作成する段階で細胞に損傷を与える可能性があること、直接試料を観察できないことなどの課題があることから、近年、マイクロ加工技術を用いて作った微細な流路にできた層流中を流れる微粒子を直接顕微

鏡観察しながら分離するセルソーターが発明され、たとえば Micro Total Analysis '98, pp. 77-80 (Kluwer Academic Publishers, 1998)、あるいは Analytical Chemistry, 70, pp. 1909-1915 (1998) などに報告されているが、観察手段に対する試料分離の応答速度が遅く、実用化するためには、試料に損傷を与えず、かつ、より応答の速い処理方法が必要であった。また、この出願の発明者らによっても従来の問題点を解決する試みがなされてきている。

発明者らによる試みは蛍光観察によって分離を行おうとするものであって、従来法に比べて特徴のある有利なものであるが、光学的計測手段、試料の導入手段、分離方法などについてはまだ詳細な検討が為されていないのが実情である。このため、たとえば、ただ蛍光観察するのみでは、蛍光を発する試料が識別することはできるが、蛍光を発しない試料が通過することを認識することができず、蛍光標識した試料のみを回収する場合に、誤って蛍光を発しない試料を回収する可能性があった。

そこで、この出願の発明は、以上のとおりのこれまでの問題点を解消し、試料の微細構造と試料中の蛍光分布に基づいて試料を分画し、回収する試料に損傷を与えることなく、簡便に細胞試料を分析分離することのできる新しい細胞分析分離装置を提供することを課題としている。

発明の開示

この出願の発明は、上記の課題を解決するものとして、第1には、試料分画部に層流で導入される試料を含む流体が導入される流路と、その両側に、対称に配置されて試料分画部において合流される1対の流体が導入される流路と、試料分画部において観察試料を排出するときのみ試料分画部に外力を導入する手段と、試料分画部から選択された試料を含む流体が層流で流れ出るように前記試料を導入する流路の下流に配置された試料回収流路と、その両側に対称に配置された必要ない試料が排出される1対の流体の流路を有する細胞分析分離装置を提供し、これ

によって回収する細胞試料に損傷を与えることがないようにする。

また、この出願の発明は、第2には、試料の微細構造と試料中の蛍光分布に基づいて試料を分画するために、装置中の試料を光学顕微鏡で観察するときに同時に少なくとも1つの実体顕微鏡像と1つの蛍光顕微鏡像を、互いの位置関係を参照して対応付けできる手段を有するものとし、第3には、脈流の生じない流速の遅い流れをポンプ等の手段を用いることなく装置内に発生させる手段を提供するため、流体の流速を、装置に導入した液滴の高さの差によって、重力によって生じる流れを利用する手段を有するものとする。

図面の簡単な説明

図1は、この発明の細胞分析分離装置のシステム構成の1例を示す模式図である。

図2は、この発明の細胞分析分離装置の光学系の構成の1例を示す模式図である。

図3は、この発明の細胞分析分離装置の試料分離部の構成の1例を示す模式図である。

図4は、この発明の細胞分析分離装置の試料分離部の構成の1例を示す模式図である。

図5は、この発明の細胞分析分離チップの実施例の1つの断面図である。

図6は、この発明の細胞分析分離手順を説明した図である。

図7は、この発明の細胞分析分離装置を用いて細胞を分離した1例についての顕微鏡写真である。

なお、図中の符号は次のものを示す。

100 細胞分析分離チップ

101、108 光源

102、109、112、114、231、

2 3 2、2 3 3 バンドパスフィルタ
1 0 3 コンデンサレンズ
1 0 4 ステージ
1 0 5、5 0 4 対物レンズ
1 0 6、1 1 0、2 1 1、2 1 2、2 6 2、2 6 3 ダイクロイックミ
ラー
1 1 1、2 1 3、2 6 1 ミラー
1 1 3、1 1 5、2 7 2 カメラ
1 1 6 画像処理解析部
1 1 7 駆動装置
2 0 0、2 0 1、2 0 2、2 0 3、5 0 6 光の進行方向
2 2 1、2 2 2、2 2 3 スリット
2 4 1、2 4 2、2 4 3 減光フィルター
2 5 1、2 5 2、2 5 3 シャッター
2 7 1 レンズ
3 0 1、3 0 2、3 0 3、3 0 4、3 0 5、3 0 6 4 0 1、
4 0 2、4 0 3、4 0 4、4 0 5、4 0 6 流路
3 1 1、4 1 1 試料
3 2 1、3 2 2 超音波源
4 2 1、4 2 2、4 2 3、4 2 4 電極
5 0 1、5 0 3 チップ断面
5 0 2 液層
5 0 5 流体の流れ
5 0 7 シール
5 0 8 針
5 0 9 チップ開口部端
5 1 0 試料液

発明を実施するための最良の形態

この出願の発明は上記のとおりの特徴をもつものであるが、以下にその実施の形態について説明する。

図 1 に、この出願の発明の細胞分析分離装置のシステム構成の 1 例を模式的に示す。101 は実体顕微鏡の光源であり、一般にハロゲン系のランプが用いられる。102 は位相差等の実体顕微鏡観察の光源の光から特定の波長のもののみを透過させるバンドパスフィルタである。103 はコンデンサレンズであり、位相差観察をする場合は位相差リングを導入し、微分干渉観察をする場合は、偏光子を導入する。104 のステージ上に載っているのは 100 細胞分析分離チップであり、117 の駆動装置によって前記ステージを移動させることで前記チップの最適な位置を観察する。前記チップ内の流路内の状態は、105 対物レンズで観察される。このとき対物レンズから観察されるのは、光源 101 から透過された光による流路内の試料の実体像と、108 の光源からの光を 109 バンドパスフィルタで励起光波長のみ 106 ダイクロイックミラーによって対物レンズから照射された励起光によって試料が発した蛍光像である。このとき、実体顕微鏡像観察に用いる光の波長は、観察する蛍光波長領域より十分短いか、あるいは十分長い波長であり、かつ、可能であれば励起光波長領域とも異なることが望ましい。前記 102 バンドパスフィルタを透過するのと同波長の光を反射する 110 ダイクロイックミラーおよび、112 バンドパスフィルターによって、流路内の実体顕微鏡像のみが 113 カメラによって観察される。他方、蛍光像は、対物レンズを通過した光のうち 111 ミラーおよび 114 バンドパスフィルターによって、蛍光観察の波長帯のみを選択的に透過させて、115 カメラで観察される。2つのカメラ 113 と 115 で撮った像は、116 画像処理部において解析され、2つの像の相対位置関係を比較することで、試料の微細構造と、蛍光の発光位置を比較同定することができる。なお、この実施例では、1つの波長帯域の実体像と、1つの波長

帯域の蛍光像を観察して比較解析したが、同様に、2つ以上の波長帯域の実体像を比較しても良いし、2つ以上の蛍光像を比較解析してもよい。また、そのためには、さらに1個以上のダイクロイックミラーおよび、光源、あるいはカメラ観測系を光路中に上記実施例と同様に配置すればよい。

図2は、さらに1つの観測カメラの受光面を用いて複数の異なる波長の像を同時に計測する、この出願の発明の細胞分析分離装置の光学系の構成の1例を示す模式図である。対物レンズから送られてきた異なる波長の光201、202、203が含まれる200光の進行方向に複数のダイクロイックミラー211、212および213ミラーが配置されている。それぞれの波長で分離された光はそれぞれ同じ光路長の位置にある合焦点面に配置されたスリット221、222、223によって観察する視野領域を選択する。次に、バンドパスフィルター231、232、233および減光フィルター241、242、243によって同程度の強度でかつ観察したい特定の波長の光を調整する。そして、シャッター251、252、253によって特定の波長の光を遮光したい場合は遮ることができる。このシャッターを通過した光は、再び、261ミラーおよび、ダイクロイックミラー262、263を通過した後、271レンズによって272カメラの受光面に結像する。ここで、各ミラー261、262、263は可動で、カメラの受光面のどの領域に結像させるかを任意に選択することができる。ここで、以上の実施例では3つの異なる波長の光の分析手法を述べたが、同様に4つ以上の異なる波長の光についても用いることができる。また、この実施例のように1つのカメラの受光面を用いることで、高価な高感度カメラを複数用意する必要がなくなる。さらにまた、高速カメラのように複数のカメラの同期が難しい場合に、1つの受光面で得られたデータを解析するのみで、実態顕微鏡像や蛍光顕微鏡像などの複数の異なった波長での画像を同時に解析することができる。

図 3 は、この発明の細胞分析分離装置の試料分離部の構成の 1 例を示す模式図である。3 0 2 は試料を含む流体が試料分画部に流れ込む流路、流路 3 0 1 と 3 0 3 は試料を含まない流体が試料分画部に流れ込む流路、3 2 1、3 2 2 は前記 3 つの流路が合流する試料分画部に超音波を照射して前記試料分画部内の試料 3 1 1 に超音波による外力を作用するために用いる超音波源である。流路 3 0 1、3 0 2、3 0 3 から導入される流体は脈流が無く、流速が一致するように調整されているため、試料分画部では層流が維持され、流路 3 0 2 から試料分画部に導入された試料 3 1 1 は外力を受けない限り、流路 3 0 5 に進行する。逆に超音波による外力が作用した場合には、流路 3 0 4 あるいは流路 3 0 5 に廃棄される。このとき、試料を導入する流路 3 0 2 と試料を回収する流路 3 0 5 は流れの方向に対して一直線上に配置され、この流路の軸に関して軸対称な形で 1 対の流体のみを試料分画部に導入する流路 3 0 1 および 3 0 3 と、同様に、不要な試料を廃棄する 1 対の流路 3 0 4 と 3 0 6 が流路 3 0 5 に対して軸対称な形で配置されている。ここで、少なくとも流路 3 0 1 と 3 0 3 の流れに対する断面積は等しく、また、流路 3 0 4 と 3 0 6 の流れに対する断面積は等しい。

図 4 は、図 3 と同様に試料分離部の構成の 1 例を示す模式図である。ここでは、超音波の替わりに静電力を用いた試料への外力の誘導手法の実施例を示す。流路 4 0 2 から導入された試料 4 1 1 を含む流体は、同様に試料分離部に導入され、光学的計測手法による計測結果に基づいて回収するか、廃棄するか判断される。回収する場合は、外力を加えず、そのまま流路 4 0 5 に進行させて回収する。そして、廃棄する場合は、電極 4 2 1 と電極 4 2 2 に電界を加えて、試料を流路 4 0 4 あるいは 4 0 6 に誘導する。このとき、電極 4 2 3 および 4 2 4 は参照電極となるように接地される。一般に、水溶液中で物質はその水溶液との境界面でゼータ電位を持ち、それに由来した電荷を持つ。したがって、電場を作用させることで廃棄する試料に外力を加えることができる。特に、この

場合には、正電荷を持つものと、負電荷を持つもので、それぞれ流路 404 あるいは 406 に分離することもできる。さらに、気泡等が試料に混ざって導入された場合にも、気泡は表面電荷を持たないことから、電場による作用は受けないが、光学的にはリポソーム等と識別が困難な場合が多い。しかし、この手法を用いることで、気泡と試料微粒子とを識別することも可能である。

図 5 は、この出願の発明の細胞分析分離チップの実施例の 1 つの断面図である。501、503 はチップ断面で、ともに観察する波長の光に対して十分な透過性がある。上面 501 の厚さは構造を維持するために mm オーダーの厚さであっても良いが、対物レンズ 504 と接して液層 502 中の流体の流れ 505 を観察するチップ断面 503 については、対物レンズの倍率に応じて最大厚さが制限される。たとえば、対物レンズ 504 に開口数 1.35 で 100 倍のものをを用いた場合には、断面の厚さは 0.2 mm 以下とすることが望ましい。試料液の導入部と回収部のチップ開口部端 509 は撥水処理されており、開口部の液が拡散しないように処理されている。試料導入部に試料液 510 を載せ、シール 507 を針 508 で刺してシールを破ることで、試料液 510 の液面の高さに応じた流速で試料液が流れ始める。このとき、試料液の量を厳密に制御することで流速が厳密に制御された脈流の無い流れを作り出すことができる。また、この手法においては特にポンプ等の装置を必要としない。

図 6 は、この出願の発明の細胞分析分離手順を説明した図である。先の実施例でも述べたように、流露に導入された試料は顕微鏡観察され、回収する試料か、廃棄する試料か選別される。そして、回収する試料については、外力を一切作用させずそのまま回収流路に進行させて回収する。このとき、試料は層流中を進行し、外力が一切加えられていないため可能な限り損傷ない試料が回収されると考えられる。次に、廃棄する場合には、細胞に損傷を与えることは、特に問題とならないため、任意

の外力を試料に作用させて排除すればよい。

図 7 は、実際に異なる蛍光を持つ試料を、この出願の発明の細胞分析分離装置で画像解析して分離した例の顕微鏡写真である。各々の流路のサイズは、その断面として幅 $20\ \mu\text{m}$ × 高さ（深さ） $20\ \mu\text{m}$ であり、各々の流量比は 1 : 1 : 1 である。また、細胞の種類はウマ赤血球であり、流体としては生理的食塩水（0.9% NaCl : pH 7.4）を用いた。また、外力としては電場（誘電電気泳動力）を用いた。写真 1 から 4 では赤色に蛍光を発する大きさ 3 マイクロメートルの細胞を回収する過程を示している。同様に写真 5 から 8 では緑色に蛍光を発する大きさ 3 マイクロメートルの細胞を廃棄する過程を示している。

産業上の利用可能性

以上詳述したように、この出願の発明によって、微小な試料を識別して損傷を受けないかたちで分離回収することが可能となる。

請求の範囲

1. 試料分画部に層流で導入される試料を含む流体が導入される流路と、その両側に対称に配置されて試料分画部において合流される1対の流体が導入される流路と、試料分画部において観察試料を排出するときのみ試料分画部に外力を導入する手段と、試料分画部から選択された試料を含む流体が層流で流れ出るように前記試料を導入する流路の下流に配置された試料回収流路と、その両側に、対称に配置された必要ない試料が排出される1対の流体の流路を有することを特徴とした細胞分析分離装置。
2. 試料を光学顕微鏡で観察するときに同時に少なくとも1つの実体顕微鏡像と1つの蛍光顕微鏡像を、互いの位置関係を参照して対応付けできる手段を有することを特徴とする請求項1の細胞分析分離装置。
3. 流体の流速を、導入した液滴の高さの差によって、重力によって生じる流れを利用する手段を有することを特徴とする請求項1の細胞分析分離装置。

图 1

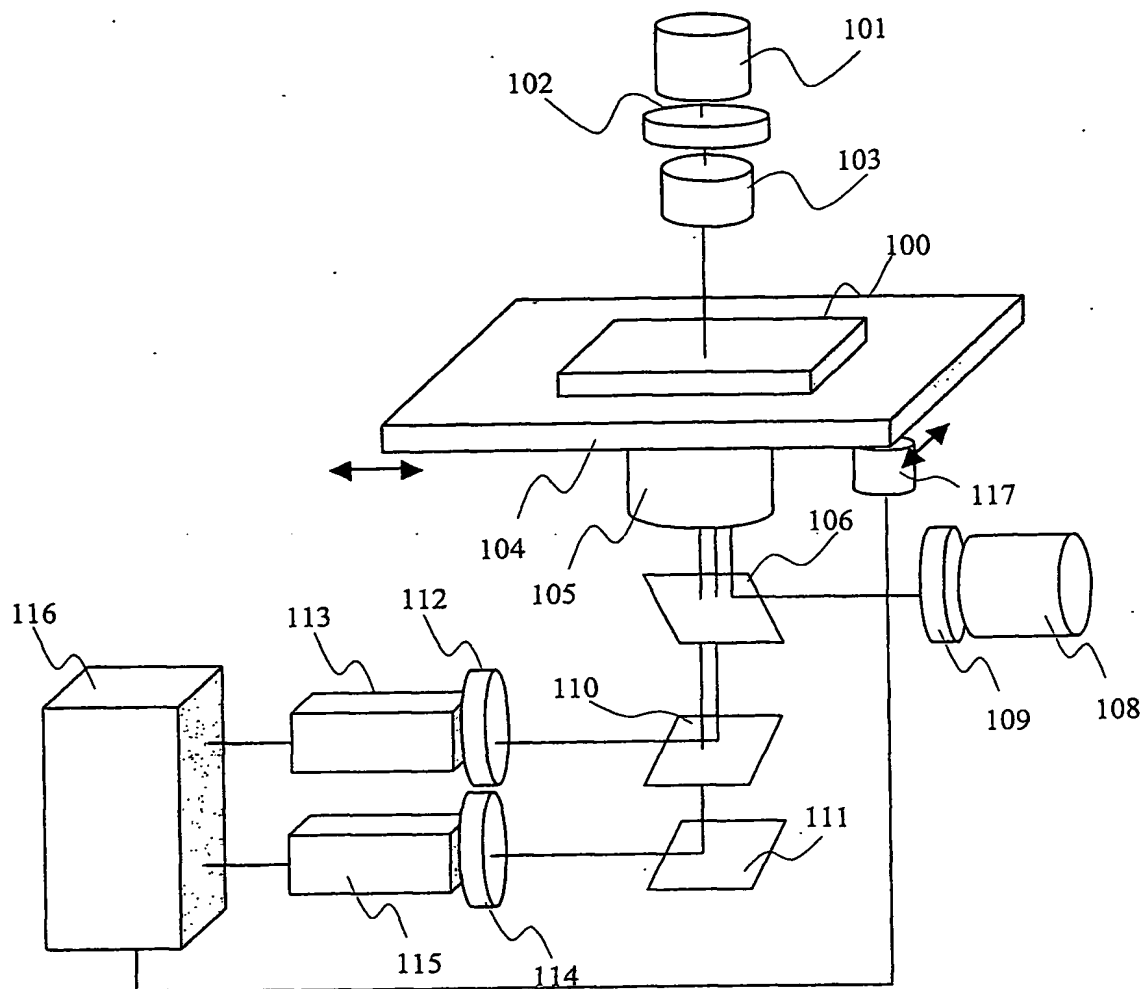


図 2

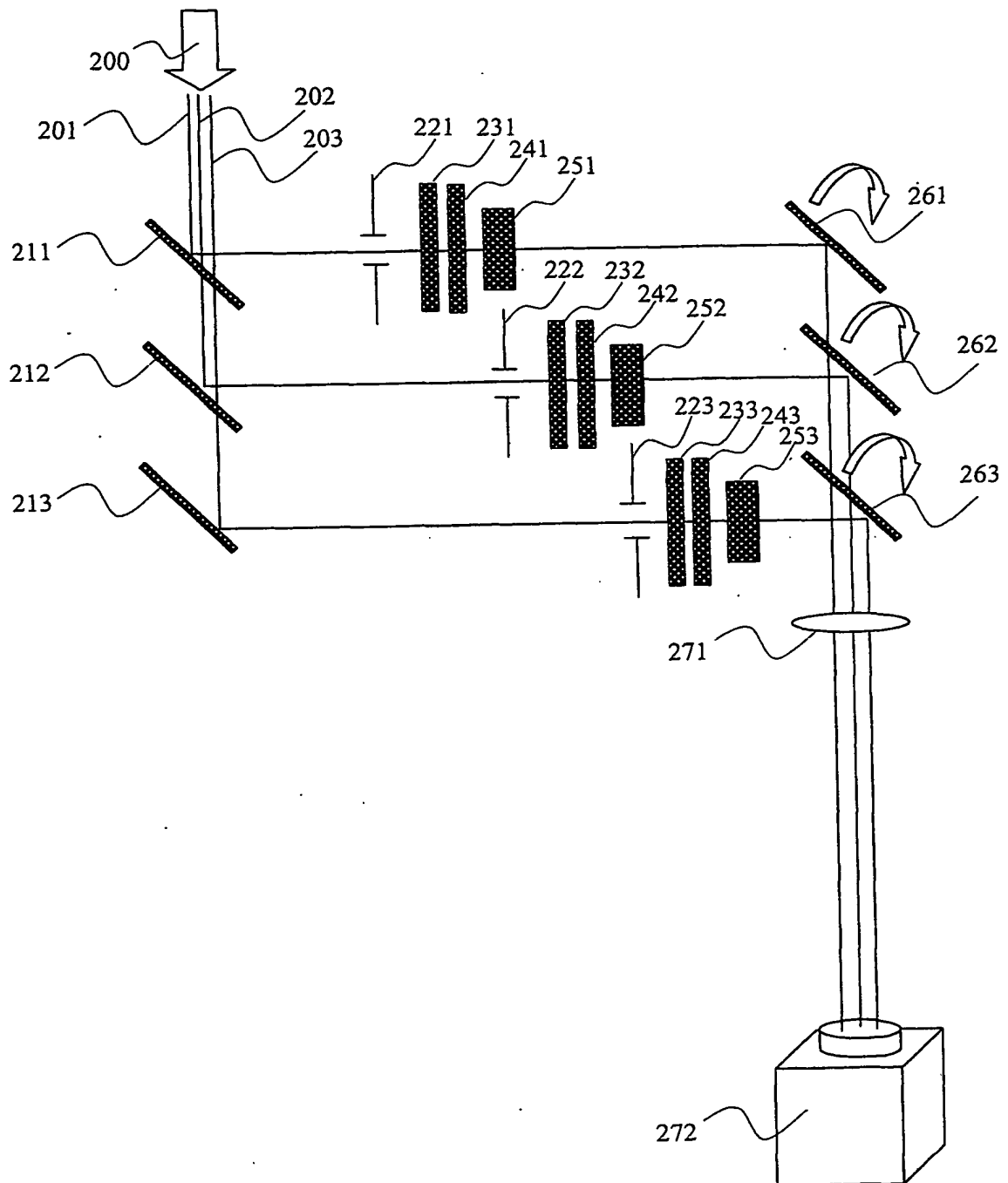


図 3

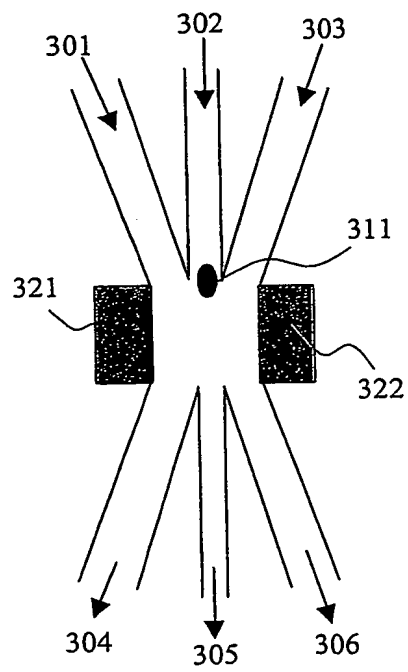


図 4

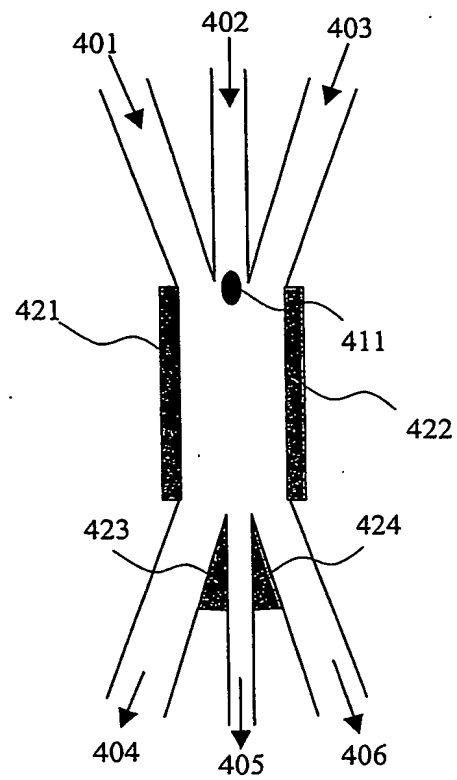


図 5

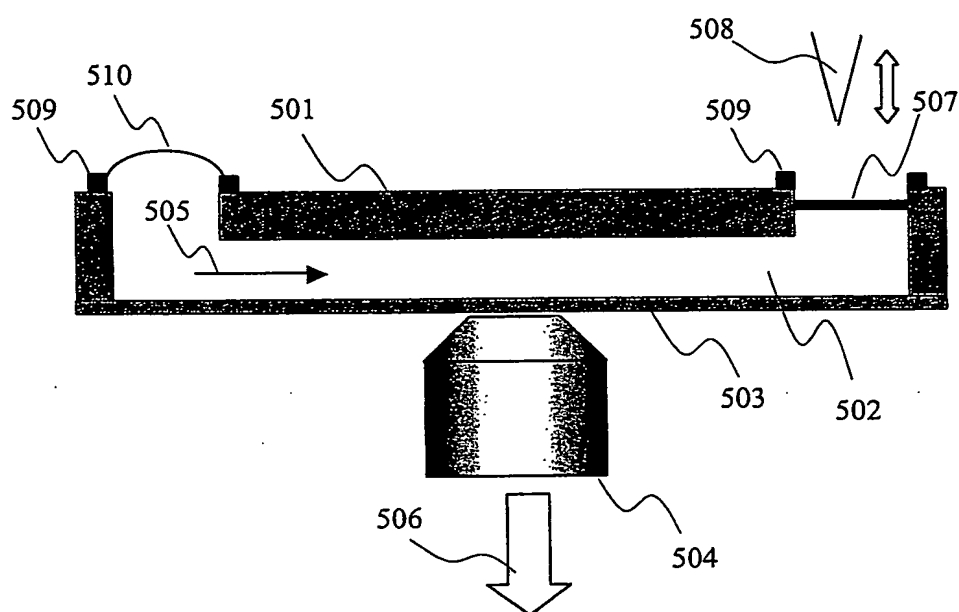


図 6

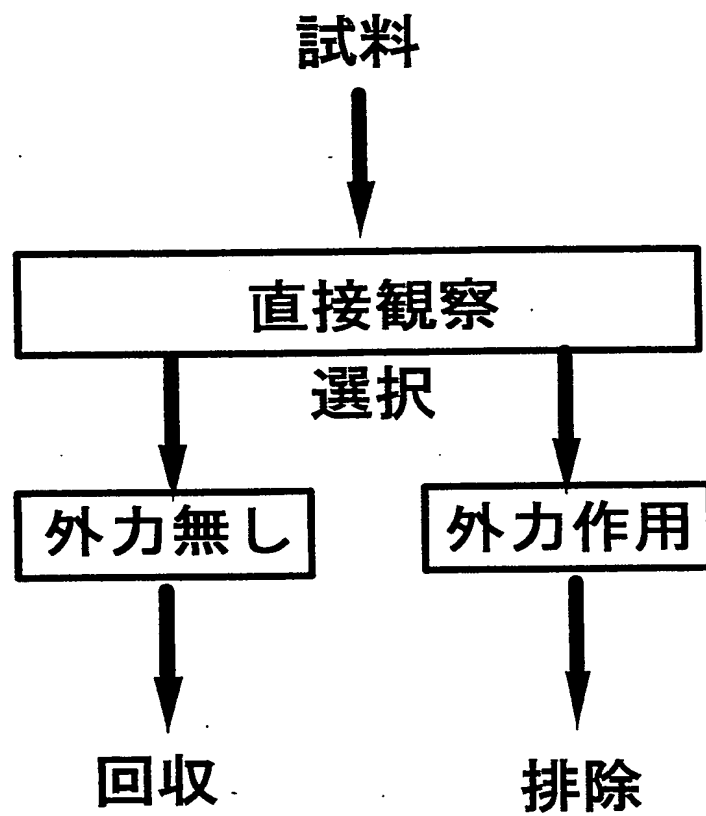
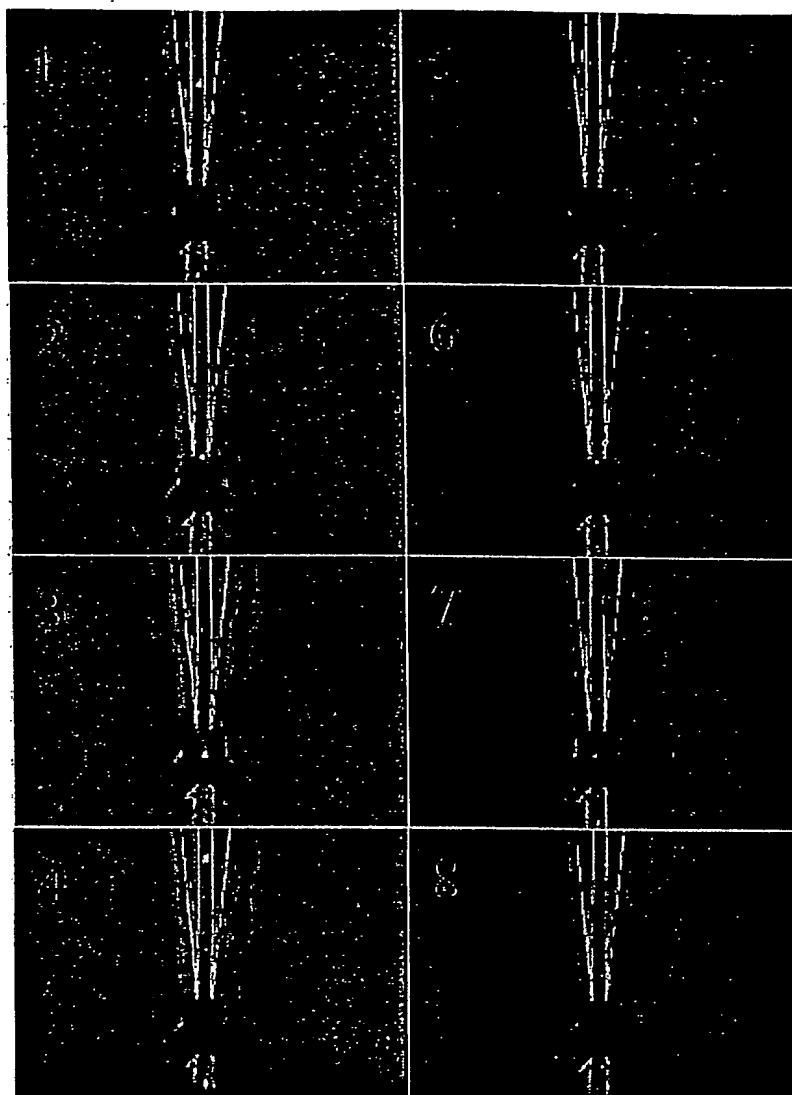


図 7



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/10760

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ G01N33/48, 15/14

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ G01N33/48, 15/14

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2003
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2003	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2002-505423 A (Cytomation, Inc.), 19 February, 2002 (19.02.02), & WO 99/44037 A	1-3
Y	JP 10-507524 A (The University of Washington), 21 July, 1998 (21.07.98), & WO 96/12171 A	1-3
Y	JP 3-122548 A (Canon Inc.), 24 May, 1991 (24.05.91), & EP 421406 A	1-3
A	ANALYTICAL CHEMISTRY, Vol.70, No.9, (1998), pages 1909 to 1915	1-3

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
---	--

Date of the actual completion of the international search 23 October, 2003 (23.10.03)	Date of mailing of the international search report 11 November, 2003 (11.11.03)
--	--

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N33/48、15/14

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N33/48、15/14

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2003年
日本国登録実用新案公報	1994-2003年
日本国実用新案登録公報	1996-2003年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
BIOSIS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 2002-505423 A (サイトメーション, インコー ポレイテッド) 2002.02.19 & WO 99/44037 A	1-3
Y	JP 10-507524 A (ユニバーシティ オブ ワシント ン) 1998.07.21 & WO 96/12171 A	1-3
Y	JP 3-122548 A (キャノン株式会社) 1991.05.24 & EP 421406 A	1-3

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

23.10.03

国際調査報告の発送日

11.11.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

亀田 宏之

2 J 9015

電話番号 03-3581-1101 内線 3251

C (続き). 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	ANALYTICAL CHEMISTRY, VOL. 70, NO. 9, (1998), p. 1909-1915	1 - 3

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☒ BLACK BORDERS

☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES

☐ FADED TEXT OR DRAWING

☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING

☐ SKEWED/SLANTED IMAGES

☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS

☐ GRAY SCALE DOCUMENTS

☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT

☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY

☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.